

Jurnal Littri 13(3), September 2007. Hlm. 93 – 97  
ISSN 0853-8212

## PENGARUH RETARDAN PACLOBUTRAZOL TERHADAP PERTUMBUHAN TEMU LAWAK (*Curcuma xanthorrhiza*) SELAMA KONSERVASI *IN VITRO*

SITTI FATIMAH SYAHID

Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik  
Jalan Tentara Pelajar No. 3 Bogor 16111

### ABSTRAK

Temu lawak (*Curcuma xanthorrhiza*) merupakan salah satu jenis tanaman obat potensial untuk dikembangkan. Rimpangnya berguna untuk mengobati penyakit hepatitis dan memperbaiki sistem kekebalan tubuh. Untuk mendukung kegiatan plasma nutfah temulawak saat ini telah dilakukan upaya konservasi secara *in vitro* di laboratorium Kultur Jaringan Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik, Bogor mulai bulan Juni 2005 sampai April 2006. Bahan tanaman yang digunakan adalah mata tunas temulawak yang telah tersedia secara *in vitro*. Media dasar yang digunakan adalah Murashige dan Skoog (MS) yang diperkaya vitamin dari group B. Sebagai sumber energi digunakan sukrosa sebanyak 30 g/l. Perlakuan yang diuji adalah beberapa taraf konsentrasi paclobutrazol yaitu: Paclobutrazol 1,0 mg/l; 3,0 mg/l dan 5,0 mg/l. Sebagai kontrol digunakan media dasar MS tanpa paclobutrazol. Rancangan yang digunakan adalah acak lengkap dengan tujuh ulangan. Parameter yang diamati adalah jumlah tunas, panjang tunas, jumlah daun dan akar pada umur 4 dan 7 bulan serta penampilan kultur secara visual. Setelah dikonservasi selama tujuh bulan, maka dilakukan uji regenerasi kultur setelah perlakuan paclobutrazol ke dalam media MS + BA 0,1 mg/l. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan retardan paclobutrazol mampu menekan pertumbuhan kultur dan dapat mengurangi periode sub kultur yang biasanya setiap dua bulan menjadi tujuh bulan. Konsentrasi paclobutrazol 5,0 mg/l merupakan konsentrasi terbaik karena kultur masih mampu beregenerasi normal setelah konservasi. Hasil aklimatisasi plantlet di rumah kaca dapat tumbuh dengan baik. Plantlet tumbuh dan berkembang tanpa menunjukkan adanya penyimpangan dalam penampilan visualnya.

Kata kunci: Temulawak, *Curcuma xanthorrhiza*, paclobutrazol, konservasi regenerasi, *in vitro*, pertumbuhan, Jawa Barat

### ABSTRACT

#### *Effect of paclobutrazol on temulawak growth during in vitro conservation*

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) is one of medicinal plant which is potential to be developed. The rhizome is used to heal hepatitis and to improve the immune system of human body. To support the medicinal germplasm conservation, *in vitro* conservation of temulawak was conducted in Tissue Culture Laboratory of Indonesian Research Institute for Medicinal and Aromatic, Bogor from June 2005 to April 2006. Sterile shoots *in vitro* were used as plant explants. The basic medium used was Murashige and Skoog (MS) medium, supplemented with vitamins from B group. Sucrose as carbon sources, was given 30 g/l into the medium. The treatment tested were several concentrations of paclobutrazol: (1) Paclobutrazol 0.0 mg/l; 1.0 mg/l; 3.0 mg/l; dan 5.0 mg/l. The treatments were arranged in a completely randomized design with seven replications. The parameters observed were number of shoots, shoot length, number of leaves and roots during conservation. After seven months conserved, shoots were regenerated into regeneration medium. The result showed that paclobutrazol at 5.0 mg/l could reduce the plant growth during seven months in conservation period and the culture could regenerate normally after transferring into multiplication medium. This technique can be applied to prolong the conservation culture. Plantlets of temulawak which were acclimatized in the glass house grew well without any changes in their performance.

Key words : Temulawak, *Curcuma xanthorrhiza*, paclobutrazol , *in vitro* conservation, regeneration, growth, West Java

### PENDAHULUAN

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) merupakan salah satu tanaman obat unggulan POM yang memiliki khasiat multifungsi. Rimpangnya yang berkhasiat obat mampu mengatasi penyakit kelainan pada hati/lever, kantong empedu, pankreas. Selain itu juga dapat menambah nafsu makan, menurunkan kadar kolesterol dalam darah, dapat meningkatkan sistem immunitas tubuh, berkhasiat anti bakteri, anti diabetik, anti hepatotoksik, anti inflamasi, anti oksidan, anti tumor, diuretika, depresan dan hipolipodemik (RAHARJO dan ROSTIANA, 2003; PURNOMOWATI dan YOGANINGRUM, 1997).

Kandungan utama dalam rimpang temulawak adalah protein, pati, zat warna kuning kurkuminoid dan minyak atsiri. Sedangkan kandungan kimia dari minyak atsirinya antara lain adalah xanthorizol (40%), kamfer, turmerol, feladren, tolilmetilkarbinol, ar-kurkumen, zingiberen, kuzerenon, germakron, dan b-tumeron (RAHARJO dan ROSTIANA, 2003).

Temulawak dapat diperbanyak dengan cara perbanyakan rimpang. Untuk mendukung penyediaan bahan tanaman temulawak, telah dilakukan upaya perbanyakan benih dengan teknik kultur jaringan. Teknik perbanyakan temu lawak secara kultur jaringan telah berhasil diperoleh oleh SYAHID dan HADIPOENTYANTI, (2002), namun teknik konservasi *in vitro* tanaman belum pernah diteliti. Selama ini teknik konservasi tanaman masih dilakukan dengan cara sub kultur secara rutin setiap dua bulan sekali ke dalam media yang sama, namun teknik ini kurang efisien karena memerlukan tambahan tenaga ekstra dan biaya untuk mendukung kegiatan tersebut.

Alternatif lain yang dapat digunakan adalah aplikasi konservasi dengan pertumbuhan minimal, yang dapat dilakukan dengan menggunakan satu atau kombinasi beberapa faktor. Konservasi secara pertumbuhan minimal dapat dilakukan dengan berbagai cara antara lain pengurangan komposisi garam medium, penyimpanan pada suhu rendah, induksi stress osmotik, penggunaan zat penghambat pertumbuhan dan penggunaan tempat kultur yang lebih besar

dan lebih banyak volume medium (SUDARMONOWATI, 2005; WITHERS, 1983; HU dan WANG, 1983; TAYLOR and DUCKI, 1993).

Hasil-hasil penelitian konservasi *in vitro* secara pertumbuhan minimal telah berhasil diteliti di antaranya pada tanaman kunyit dengan perlakuan pengenceran media dasar kombinasi dengan manitol (SYAHID, 2004), pada tanaman lada dengan mengaplikasikan teknik pengenceran media dasar kombinasi dengan retardan paclobutrazol (YELNITITS dan BERMAWIE, 2001), tanaman inggu dengan mengaplikasikan penggunaan zat penghambat tumbuh ABA dan manitol (HUSNI, 1997), tanaman jahe dengan pengenceran media dasar yang dikombinasikan dengan sukrosa tinggi (SYAHID dan BERMAWIE, 2000) dan tanaman bangle (IBRAHIM, 2005) dengan perlakuan retardan paclobutrazol pada beberapa konsentrasi.

Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh beberapa taraf konsentrasi retardan paclobutrazol terhadap pertumbuhan temulawak *in vitro* dan uji regenerasi tanaman setelah periode konservasi.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik, Bogor, mulai bulan Juni 2005 sampai April 2006.

Bahan tanaman yang digunakan untuk dikonservasi adalah mata tunas temulawak dengan ukuran 2 cm yang telah tersedia secara *in vitro*.

Media dasar yang digunakan adalah Murashige dan Skoog (MS) yang diperkaya vitamin dari group B. Ke dalam media diberikan sukrosa sebanyak 30 g/l sebagai sumber energi dan media dibuat padat dengan penambahan agar sebanyak 8 g/l. pH media diatur keasamannya dengan penambahan HCL atau KOH.

Perlakuan yang diuji adalah beberapa taraf konsentrasi paclobutrazol yaitu: Kontrol (tanpa paclobutrazol), paclobutrazol 1,0 mg/l, paclobutrazol 3,0 mg/l dan, paclobutrazol 5,0 mg/l. Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan tujuh ulangan. Ke dalam setiap botol dikonservasi satu buah tunas temu lawak *in vitro*.

Parameter yang diamati adalah persentase tumbuh kultur, jumlah tunas, tinggi tunas, dan jumlah daun selama perlakuan paclobutrazol. Selain itu juga diamati perubahan-perubahan yang terlihat pada kultur selama periode konservasi seperti warna daun, batang, akar dan lainnya. Pengamatan dilakukan pada umur empat dan tujuh bulan.

Setelah dikonservasi selama tujuh bulan maka dilakukan pengujian daya tumbuh kultur ke dalam media regenerasi yaitu MS + BA 0,1 mg/l. Media ini adalah media perbanyakan rutin hasil penelitian sebelumnya, dengan

lama sub kultur setiap dua bulan sekali (KRISTINA *et al.*, 2005).

Perlakuan yang diuji adalah beberapa asal konsentrasi paclobutrazol yaitu: asal kontrol (tanpa paclobutrazol), asal paclobutrazol 1,0 mg/l, asal paclobutrazol 3,0 mg/l dan, asal paclobutrazol 5,0 mg/l. Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap. Analisis data menggunakan SAS (Statistical Analysis System).

Parameter yang diamati adalah persentase tumbuh kultur, jumlah tunas, tinggi tunas, dan jumlah daun dan akar umur enam minggu.

Botol-botol kultur yang telah diberi perlakuan, selanjutnya disusun di atas rak-rak kultur, dan disimpan dalam ruang inkubasi dengan intensitas cahaya 1000 lux selama 16 jam/hari.

Di samping itu juga dilakukan pengujian secara *in vitro* sebagian plantlet langsung ditumbuhkan di rumah kaca.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Persentase Tumbuh dan Visual Kultur Selama Konservasi

Pada umur empat bulan setelah perlakuan, persentase tumbuh kultur masih mencapai 100%, di mana pengaruh perlakuan belum mempengaruhi daya tumbuh biakan. Memasuki umur tujuh bulan, perlakuan tanpa paclobutrazol mulai memperlihatkan perubahan pada batang dan daun, dimana daun mulai berubah warna dari hijau menjadi kuning kecokelatan dan mulai nekrosis, batang terlihat rapuh dan lemah serta akar berubah warna dari hijau menjadi cokelat kehitaman. Di lain pihak, perlakuan dengan penambahan paclobutrazol ke dalam tanaman mampu mereduksi pertumbuhan, perubahan ketegaran batang dan daun, warna batang dan daun yang terlihat lebih hijau (Tabel 1).

Pemberian paclobutrazol pada konsentrasi tinggi 5,0 mg/l merupakan konsentrasi terbaik untuk memperpanjang masa simpan kultur karena sampai umur tujuh bulan, perlakuan ini mampu mereduksi pertumbuhan biakan, namun kondisi kultur masih mampu beregenerasi secara normal.

Pemanjangan masa simpan dengan perlakuan paclobutrazol lebih lama karena retardan ini dapat meningkatkan kandungan butir-butir hijau daun sehingga proses fotosintesis plantlet lebih baik dibanding tanpa paclobutrazol (MATTJIK *et al.*, 1994 ).

Tabel 1. Visual kultur pada umur 4 dan 7 bulan setelah perlakuan paclobutrazol  
 Table 1. Culture performance at 4 and 7 months after paclobutrazol treatment

Perlakuan (mg/l) Treatment (mg/l)	Visual kultur Culture performance			
	4 bulan 4 months		7 bulan seven months	
Paclobutrazol 0,0	Daun induk mulai menguning	Daun menguning dan mulai cokelat, batang mulai rapuh, akar berubah warna jadi cokelat, induk mati		
Paclobutrazol 1,0	Daun dan batang hijau	Batang dan daun anakan baru masih hijau, kuat, akar hijau dan kuat, namun induk mulai nekrosis		
Paclobutrazol 3,0	Daun dan batang hijau	Batang dan daun anakan baru hijau, kuat, akar hijau dan kuat, namun induk mulai nekrosis		
Paclobutrazol 5,0	Daun dan batang hijau	Batang dan daun anakan baru hijau, kuat, akar hijau dan kuat, induk nekrosis		

## Jumlah Tunas dan Daun

Sampai umur empat bulan setelah perlakuan paclobutrazol, belum terlihat perbedaan yang nyata pada parameter jumlah dan panjang tunas. Kemungkinan penyerapan hara belum optimal sehingga pengaruh perlakuan belum nyata terlihat. Perbedaan yang sangat nyata ditemui pada saat kultur memasuki umur tujuh bulan, di mana pengaruh pemberian paclobutrazol pada konsentrasi 5,0 mg/l nyata menurunkan jumlah tunas yang dihasilkan serta menurunkan laju pemanjangan tunas (Tabel 2).

Pada semua perlakuan paclobutrazol, tunas-tunas baru yang masih bertambah sampai kultur berumur tujuh bulan walaupun dalam jumlah sedikit. Diduga kandungan sitokinin endogen di dalam jaringan cukup tinggi sehingga pada perlakuan tersebut tunas baru masih terbentuk. Namun pemberian paclobutrazol konsentrasi tinggi 5,0 mg/l mampu menekan jumlah tunas yang berbeda nyata dengan perlakuan tanpa paclobutrazol. Paclobutrazol merupakan retardan yang bersifat menurunkan aktivitas metabolisme jaringan dan dapat menghambat proses pertumbuhan vegetatif (PURNOMO dan PRAHADINI, 1991) dan menghambat biosintesis giberalin yang berfungsi dalam proses pemanjangan sel dan jaringan tanaman (SANKHALA *et al.*, 1992 dalam YELNITITIS dan BERMAWIE, 2001). Pemberian paclobutrazol 5,0 mg/l nyata mereduksi proses pemanjangan sel bila dibandingkan dengan paclobutrazol 1,0 mg/l dan tanpa paclobutrazol. Sementara penggunaan paclobutrazol

konsentrasi 3 dan 5 mg/l tidak berpengaruh nyata terhadap laju pemanjangan tunas. Paclobutrazol di dalam jaringan ditranslokasikan secara akropetal melalui jaringan xylem sehingga berdampak terhadap pemendekan tinggi tanaman (CATHEY, 1975). Namun pada kultur temulawak, penggunaannya pada konsentrasi tinggi yang terlihat nyata menurunkan laju pemanjangan. Retardan dapat menghambat pemanjangan sel pada meristem apikal tanaman yang responsif dan mengurangi laju pertumbuhan batang.

Hal lain yang ditemui pada perlakuan paclobutrazol temu lawak adalah penampilan batang yang sangat tegar dan kuat serta lapisan setiap pelepah yang sangat kokoh pada setiap perlakuan paclobutrazol. Kondisi ini disebabkan oleh fisiologis senyawa ini yang mampu mempertegar dan mempertebal batang, seperti yang ditemui pada perlakuan paclobutrazol pada jahe yang dapat mempertegar plantlet yang dihasilkan (MATTJIK *et al.*, 1994).

## Jumlah Daun dan Akar

Sampai umur empat bulan pengamatan, belum terlihat perbedaan yang nyata untuk parameter jumlah daun dan akar. Pada saat kultur berumur tujuh bulan, jumlah daun yang dihasilkan pada perlakuan paclobutrazol (1,0 - 5,0 mg/l) tidak menunjukkan perbedaan yang nyata dengan perlakuan tanpa paclobutrazol. Hal yang berbeda ditemui pada parameter jumlah akar, di mana perlakuan paclobutrazol 5,0 mg/l nyata menghasilkan akar yang lebih sedikit dibandingkan kontrol sedangkan perlakuan di antara paclobutrazol (1,0 - 5,0 mg/l) tidak memperlihatkan perbedaan yang nyata (Tabel 3).

Jumlah daun temu lawak yang dihasilkan tidak berbeda pada berbagai konsentrasi paclobutrazol. Dapat dikatakan di sini bahwa paclobutrazol tidak mempengaruhi pembentukan daun. Hal yang berbeda ditemui pada konservasi kultur *in vitro* lada, di mana jumlah daun tereduksi dengan perlakuan paclobutrazol pada konsentrasi 5,0 mg/l (YELNITITIS dan BERMAWIE, 2001). Selanjutnya untuk parameter jumlah akar, ditemui hal yang berbeda terhadap respon paclobutrazol. Pemberian paclobutrazol konsentrasi 5,0 mg/l mereduksi jumlah akar yang dihasilkan bila dibandingkan dengan kontrol. Walaupun paclobutrazol merupakan zat penghambat tumbuh yang dapat mereduksi pertumbuhan, namun pada kultur temulawak, produksi

Tabel 2. Pengaruh beberapa taraf konsentrasi paclobutrazol terhadap jumlah tunas dan tinggi tunas, umur 4 dan 7 bulan setelah konservasi

Table 2. Effect of several concentrations of paclobutrazol on the number of shoots and shoot length, 4 and 7 months after conservation

Perlakuan Treatment (mg/l)	Jumlah tunas Number of shoots		Panjang tunas Shoot length	
	4 bulan 4 months	7 bulan 7 months	4 bulan 4 months	7 bulan 7 months
Paclobutrazol 0.0	1.14 a	2.43 a	2.21 a	6.14 a
Paclobutrazol 1.0	1.40 a	2.14 ab	2.14 a	4.43 ab
Paclobutrazol 3.0	1.00 a	1.14 b	2.00 a	3.21 bc
Paclobutrazol 5.0	0.85 a	1.14 b	1.29 a	2.00 c

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada setiap kolom tidak berbeda nyata pada taraf 5% DMRT

Note : Numbers followed by the same letters on the each column are not significantly different at 5% of DMRT

Tabel 3. Pengaruh beberapa taraf konsentrasi paclobutrazol terhadap jumlah daun dan akar temulawak, umur 4 dan 7 bulan setelah konservasi *in vitro*

Table 3. Effect of several concentrations of paclobutrazol on the number of leaves and roots, 4 and 7 months after conservation

Perlakuan Treatment (mg/l)	Jumlah tunas Number of shoots		Panjang tunas Shoot length	
	4 bulan 4 months	7 bulan 7 months	4 bulan 4 months	7 bulan 7 months
Paclobutrazol 0.0	1.85 a	2.57 a	9.43 a	25.28 a
Paclobutrazol 1.0	1.71 a	2.00 a	10.00 a	20.28 ab
Paclobutrazol 3.0	1.71 a	1.57 a	12.80 a	19.14 ab
Paclobutrazol 5.0	1.43 a	1.57 a	9.43 a	17.43 b

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% DMRT

Note : Numbers followed by the same letters in the same column are not significantly different at 5% of DMRT

akar tidak mengalami penghambatan. Berbeda dengan pengaruh paclobutrazol terhadap pembentukan akar bangle nyata menurunkan produksi akar yang terbentuk (IBRAHIM, 2005). Tampaknya respon terhadap perlakuan paclobutrazol berbeda terhadap tanaman yang berbeda. Pada kultur temulawak, kandungan auksin dalam jaringan kemungkinan cukup tinggi, sehingga perlakuan zat penghambat paclobutrazol pada konsentrasi sampai 5,0 mg/l tidak berpengaruh nyata terhadap pembentukan akar.

### Regenerasi Kultur Setelah Konservasi

Uji regenerasi merupakan hal yang penting di dalam konservasi *in vitro*. Untuk menguji daya tumbuh biakan setelah dikonservasi tujuh bulan, maka dilakukan pemindahan pada media baru untuk multiplikasi tunas yaitu MS + BA 0,1 mg/l. Sebaiknya perlakuan yang diaplikasikan selama periode konservasi, masih mampu mengembalikan daya tumbuh biakan setelah dikultur kembali ke media multiplikasi tunas. Hasil uji regenerasi tunas temulawak setelah perlakuan paclobutrazol terlihat cukup tinggi, karena semua kultur yang diberi perlakuan paclobutrazol mampu tumbuh dengan baik pada media regenerasi (MS+BA 0,1 mg/l) (Tabel 4).

Tabel 4. Uji regenerasi kultur temulawak setelah perlakuan paclobutrazol 7 bulan, ke dalam media MS+ BA 0,1 mg/l, umur 6 minggu setelah tanam

Table 4. Regeneration test of temulawak into MS + BA 0.1 mg/l, 6 weeks after *in vitro* conservation

Asal perlakuan konservasi Origin of conservations treatment(mg/l)	Jumlah tunas Number of shoots	Jumlah daun Number of leaves	Panjang tunas Shoots length	Jumlah akar Number of roots
Paclobutrazol 0.0	1.40 a	2.80 a	4.00 a	13.6 a
Paclobutrazol 1.0	1.20 a	2.80 a	3.20 a	9.60 a
Paclobutrazol 3.0	0.80 a	2.40 a	2.80 a	6.20 a
Paclobutrazol 5.0	1.00 a	2.00 a	3.00 a	6.80 a

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% DMRT

Note : Numbers followed by the same letters in the same column are not significantly different at 5% of DMRT

Tingginya kemampuan kultur temulawak untuk tumbuh kembali setelah perlakuan konservasi sangat menguntungkan karena masa simpan kultur dapat diperpanjang, lebih efisien dalam penggunaan tenaga, tempat dan biaya yang dibutuhkan. Walaupun pada umur enam minggu setelah dimedia regenerasi baru ditemui pertambahan tunas baru sebanyak 1,0 – 1,40 tunas, namun hasil ini cukup baik karena tanaman yang berasal dari perlakuan paclobutrazol 5,0 mg/l, ternyata masih mampu beregenerasi dan menghasilkan tunas baru. Hasil yang sama ditemui pada konservasi *in vitro* kunyit dengan teknik pengurangan hara makro yang dikombinasikan dengan 1% manitol, di mana kultur dapat beregenerasi kembali secara normal setelah sembilan bulan konservasi (SYAHID, 2004), kultur jahe (SYAHID dan BERMAWIE, 2002) dan kultur pule pandak (PURNAMANINGSIH dan GATI LESTARI, 1997).

Hasil aklimatisasi plantlet di rumah kaca pada umur 2 bulan cukup tinggi karena bibit dapat tumbuh dan hidup dengan baik, serta berkembang dengan sempurna secara morfologi baik dalam bentuk batang dan daun tanpa menunjukkan adanya penyimpangan dalam penampilannya secara visual di rumah kaca.

### KESIMPULAN

Temu lawak dapat dikonservasi dengan pertumbuhan minimal yaitu dengan penggunaan retardan paclobutrazol.

Penggunaan konsentrasi paclobutrazol 5,0 mg/l mampu mereduksi pertumbuhan kultur temulawak *in vitro* dan memperpanjang masa simpan kultur menjadi tujuh bulan.

Regenerasi tunas temulawak setelah dikonservasi selama tujuh bulan masih tinggi, ditunjukkan dengan kemampuan tunas untuk tumbuh dengan baik pada media MS+BA 0.1 mg/l, enam minggu setelah perlakuan.

Plantlet hasil konservasi *in vitro* mampu tumbuh dengan baik di rumah kaca dengan pertumbuhan yang normal.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Bapak Hobir, BA atas saran dan evaluasinya terhadap makalah hasil penelitian, serta kepada Saudara Dedi Surachman yang telah membantu pembuatan media selama penelitian ini berlangsung dan Saudara Yayasan di rumah kaca yang telah membantu pemeliharaan tanaman.

### DAFTAR PUSTAKA

CATHEY, H. M. 1975. Comparative plant growth retarding activities of ancylidol with ACPH phosfon, chlormequat and SAPH on ornamental plant species. *Hot. Sciences*. 10 (3) : 204-216.

- HU, C. Y and P.J. WANG, 1983. Meristem, shoot tip and bud culture. *In*: D.A. Evans, W.R. Sharp, P.V. Amiroto. (Eds.) Techniques for propagation and breeding. MacMillan Publishing, New York. pp. 77-227.
- IBRAHIM, M.S.D, 2005. Pengaruh pemberian paclobutrazol terhadap pertumbuhan bangle (*Zingiber purpureum*) dalam penyimpanan *in vitro*. Buletin Tanaman Rempah dan Obat, Bogor, XVI (2) : 49-55.
- HUSNI, A. 1997. Perbanyakan dan penyimpanan tanaman inggu melalui kultur jaringan. Buletin Plasma Nutfah. II(1) : 9-13.
- KRISTINA, N.N., N. BERMAWIE., HOBIR., S.F. SYAHID., M.S.D. IBRAHIM., AMALIA., N. SIRAIT, 2005. Konservasi *in vitro* tanaman rempah dan obat. Laporan Teknis Balittro (Tidak diterbitkan).
- MATTJIK, N. A., E. PRASETYO dan J. WIROATMODJO. 1994. Penggunaan retardan pada media kultur *in vitro* *Zingiber officinale* Rosc untuk memperoleh ketegaran plantlet. Makalah dalam Seminar Hasil Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi II. Puslitbang Bioteknologi, LIPI 6-7 September 1994
- PURNAMANINGSIH, R dan E. GATI LESTARI, 1997. Penyimpanan dan regenerasi pule pandak melalui kultur *in vitro*. Prosiding Seminar Perhimpunan Bioteknologi Pertanian Indonesia. Surabaya, 12-14 Maret 1997, p.252-260.
- PURNOMO DAN PRAHADINI, 1991. Pengaruh saat aklimatisasi dan konsentrasi paclobutrazol selama dua musim panen apel (*Malus syvestris* Mill) Jurnal Hortikultura. 1(2) : 58-68.
- PURNOMOWATI, S dan A. YOGANINGRUM, 1997. Temu lawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). Pusat Dokumentasi dan Informasi Ilmiah, LIPI, Jakarta. 44 p.
- RAHARJO, M dan O. ROSTIANA, 2003. Standar Prosedur Operasional Budidaya Temu Lawak. Sirkular No.8. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Balittro, Bogor, p.33-38.
- SYAHID, S.F dan E. HADIPOENTYANTI, 2002. Pengaruh zat pengatur tumbuh Benzyl Adenin (BA) dan NAA terhadap pertumbuhan temu lawak (*Curcuma xanthorrhiza*). Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. XIII (2) : 1-6.
- SYAHID, S.F. 2004. Konservasi kunyit (*Curcuma domestica* Vahl.). melalui pertumbuhan minimal. Prosiding Simposium IV Hasil Penelitian Tanaman Perkebunan, Bogor 28-30 September 2004. p.231-236.
- SYAHID, S.F dan N. BERMAWIE, 2000. Pengaruh pengenceran media dasar terhadap pertumbuhan kultur jahe dalam penyimpanan secara *in vitro*. Jurnal Puslitbangtri. V(4) : 115 -118.
- SUDARMONOWATI. E. 2005. Konservasi Plasma Nutfah. Buku Pedoman Pengelolaan Plasma Nutfah Perkebunan. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. Badan Litbang Pertanian. p.27-37.
- TAYLOR, PAUL W. J and DUKIE, 1993. Development of an *in vitro* culture technique for conservation of *Saccharum* spp. hybrid germplasm. Plant cell, Tissue and Organ Culture. 34 :217-222.
- WITHERS, L.A. 1983. Germplasm storage. *In*: S.H. Manthell and H. Smith (ed.). Plant Biotechnology. Cambridge University Press. London : 187-218.
- YELNITITIS dan N. BERMAWIE, 2001. Konservasi tanaman lada (*Piper nigrum* L.) secara *in vitro*. Jurnal Littri 7(3): 88-92.

